

# 胶原蛋白水凝胶在软骨组织工程中的应用

宁志刚, 杨柳

(重庆第三军医大学西南医院关节中心, 重庆 400038)

**【摘要】** 由创伤或骨病所致的关节骨软骨损伤在临床中十分常见, 其中软骨缺损者达 40.31%。由于关节软骨自身修复能力低下, 采用组织工程技术对关节软骨损伤进行修复是目前采用再生医学治疗关节软骨损伤的新方法。组织工程支架按照性状可分为预成型支架材料及水凝胶材料两大类。传统的预成型支架材料移植技术容易给缺损周边软骨带来继发损伤, 也存在支架与缺损整合不紧密等问题。如何在避免二次损伤的基础上, 应用理想的仿生材料复合种子细胞修复关节不规则软骨损伤将成为未来软骨损伤修复的主要问题。选取微创、仿生并且可以原位塑形的胶原蛋白水凝胶复合种子细胞修复关节软骨损伤为损伤关节软骨的修复带来了希望。本文结合国内外相关文献对目前胶原蛋白水凝胶在软骨组织工程中的应用做一综述。

**【关键词】** 胶原; 水凝胶; 软骨; 组织工程; 综述文献

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2011.10.025

**Application of collagen hydrogel in cartilage tissue engineering** NING Zhi-gang, YANG Liu. Center of Joint Surgery, Southwest Hospital, the Third Military Medical University of Chongqing, Chongqing 400038, China

**ABSTRACT** Articular osteocartilage injury caused by trauma or bone disease is very common in clinical practices, the proportion of cartilage defects reached 40.31%. As the low self healing abilities of articular cartilage, the technology of tissue engineering becomes a new method to treat articular cartilage injuries with regenerative medicine. Scaffolds can be divided into pre-formed and hydrogel scaffolds according to properties. The traditional graft of pre-formed scaffold will bring the secondary injury to the cartilage around the defect, and the loose graft intergration with the defect surface is still a problem. Repairing irregular articular cartilage defects with ideal biomimic materials on the basis of avoiding secondary damage will become a main issue. The method of minimally invasive injecting, biomimics, and in situ remodeling brings hope to articular cartilage repairing. Below is a summary of the international and domestics reference data of recent years on collagen hydrogel in cartilage tissue engineering.

**KEYWORDS** Collagen; Hydrogel; Cartilage; Tissue engineering; Review literature

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2011, 24(10): 884-886 www.zggszz.com

众所周知, 关节透明软骨由于缺乏血供致自我修复能力差, 组织工程技术的出现为软骨修复再生提供了新的方法。支架材料的选择是组织工程研究的关键, 在软骨组织工程支架中, 水凝胶支架相比预成型支架可塑性更好、临床应用更方便、更适合微创治疗<sup>[1-4]</sup>, 而胶原蛋白水凝胶由于具有胶原蛋白仿生性高、生物相容性好的优点而越来越受到关注<sup>[5-7]</sup>。

胶原蛋白水凝胶是由胶原蛋白为主要组分构建的一类单纯及复合水凝胶的统称, 目前应用于软骨再生修复的凝胶材料主要包括 I 型胶原蛋白、II 型胶原蛋白、胶原蛋白复合水凝胶等。本文对上述水凝胶近年来在软骨修复再生领域的发展进行综述。

## 1 I 型胶原蛋白水凝胶

由于 I 型胶原蛋白分布广、易于提取, 在组织工程软骨中应用最早。Wakitani 等<sup>[8]</sup>较早进行了这方面的尝试, 用 I 型胶原凝胶与兔软骨细胞混合后修复兔股骨滑车全层软骨缺损, 12 周后缺损部位生物力学指标与正常类似, 48 周以后完全相同。Kuroda 等<sup>[9]</sup>对胶原凝胶的临床应用进行了报道, 将自体骨

髓间充质干细胞复合胶原凝胶植入患者内侧股骨髁后用自体骨膜覆盖, 7 个月后检查缺损处由新生组织平滑覆盖并且番红 O 染色阳性, 1 年后该患者临床症状显著缓解, 并且恢复了受伤之前运动水平。最近, Gavenis 等<sup>[10]</sup>设计了一种无须细胞的 I 型胶原蛋白胶塞, 它可以促进周围的软骨细胞向材料迁移, 通过大体观察及免疫组化证实迁移的软骨细胞可以在此材料上生长并分泌 II 型胶原蛋白, 这一发现提出了在软骨缺损处应用单纯材料诱导缺损周围软骨细胞迁移修复软骨的可行性。

## 2 II 型胶原蛋白水凝胶

II 型胶原蛋白虽然没有 I 型胶原蛋白来源广泛、易于提取, 但它是软骨细胞外基质的结构蛋白, 而且能够维持软骨细胞的表型及促进软骨细胞分化, 为软骨细胞的黏附提供基础, 它的这些优势使其成为近年来胶原蛋白水凝胶的研究热点。Bosnakovski 等<sup>[11]</sup>比较了牛 bMSCs 在藻酸盐凝胶、I 型胶原凝胶、II 型胶原凝胶的成软骨分化情况, 结果显示在 II 型胶原凝胶中 bMSCs 向软骨方向的分化最显著。Funayama 等<sup>[12]</sup>将 II 型胶原蛋白凝胶-软骨细胞复合物植入兔膝关节滑车软骨缺损处, 8、12、24 周进行观察, 通过大体观察、组织学染色, 发现

从第 8 周开始可以观察到良好形态的透明软骨的形成; 移植 12~24 周后再生的软骨含有丰富的 II 型胶原, 而且被修复的缺损与对照组的组织学评分有明显差异。但是有研究表明, 类风湿性关节炎的发病与 II 型胶原自身免疫反应有关<sup>[13-15]</sup>, 用 II 型胶原免疫某些动物可诱导出实验性关节炎<sup>[16-18]</sup>。所以, 对 II 型胶原用于软骨组织工程载体的安全性有待进一步研究。

### 3 胶原蛋白复合水凝胶

复合材料因为兼具单纯组分的特性, 所以越来越受到学者重视。研究人员通过将胶原蛋白与生物材料复合, 改进了其生物及力学特性, 从而构建出更理想的支架材料。

**3.1 I 型胶原蛋白-纤维蛋白复合水凝胶** 纤维蛋白是一种广泛存在于细胞外基质中的天然大分子材料。通过模拟血凝的最后阶段反应制成的纤维蛋白胶在临床上已经被广泛用于粘合创口以及止血<sup>[19]</sup>。目前, 已经有以纤维蛋白凝胶为组分的软骨修复水凝胶进入临床试验阶段<sup>[20]</sup>。通过将纤维蛋白与胶原蛋白复合构建的水凝胶可以使其降解速度更好地与软骨细胞再生同步。池光范等<sup>[21]</sup>将牛 I 型胶原、人血冻干纤维蛋白原、凝血酶按一定比例混合后, 复合软骨细胞体外培养, 3 周后 Masson 染色形成软骨陷窝, II 型胶原寡核苷酸探针原位杂交证实其软骨细胞表达 II 型胶原 mRNA。王立春等<sup>[22]</sup>比较了 I 型胶原蛋白-纤维蛋白复合水凝胶与单纯 I 型胶原蛋白水凝胶对兔关节软骨的修复效果, 结果显示 4 周后复合水凝胶修复组大体观察优于单纯水凝胶, 12 周后复合水凝胶修复组的组织学评分优于单纯 I 型胶原蛋白水凝胶, 差异有统计学意义。但是, 也有关于纤维蛋白凝胶可导致过敏性休克报道, 生物蛋白胶所致术中过敏性休克发生率为 0.5%~5.8%<sup>[23]</sup>。所以, I 型胶原蛋白-纤维蛋白复合水凝胶的生物安全性有待进一步深入研究。

**3.2 II 型胶原蛋白-海藻酸盐复合水凝胶** 海藻酸盐是从褐藻中提取的亲水性高分子电解质, 在二价阳离子存在条件下可交联形成水凝胶, 生物相容性好, 酶解产物对人体无毒害作用。将 II 型胶原蛋白与海藻酸盐复合, 可以改善 II 型胶原蛋白水凝胶的强度, 并且能促进 bMSCs 向软骨方向分化<sup>[24]</sup>。Zheng 等<sup>[25]</sup>利用 II 型胶原-海藻酸盐凝胶与骨髓间充质干细胞进行培养, 然后植入兔的背部, 8 周后通过组织学、组织化学染色、RT-PCR 等方法证实其可以诱导骨髓间充质干细胞向成软骨方向分化, 而且有 II 型胶原、aggrecan、sox-9 等基因的表达。

### 4 问题和展望

虽然胶原蛋白水凝胶具有生物相容性好、易诱导成软骨等优点, 但是由于其体内的降解速度快、力学性质差, 不能满足软骨再生修复需要。因此, 一方面需要继续探寻具有良好生物相容性、生物可降解性、无免疫原性、拥有良好可塑性的软骨支架材料; 另一方面改良现有的软骨支架材料, 使其种子细胞的黏附转化及生长, 分泌蛋白多糖及胶原基质。

本课题组认为, 依据仿生学原理构建符合人体自身结构的组织工程支架材料将成为日后软骨修复的重点, 并且初步探讨了 II 型胶原蛋白-糖胺多糖复合凝胶进行软骨缺损修复的可行性。相信不久的将来, 会有更加理想的软骨支架材料研制成功, 为组织工程软骨早日临床应用打下坚实基础。

#### 参考文献

[1] Yokota M, Yasuda K, Kitamura N, et al. Spontaneous hyaline carti-

lage regeneration can be induced in an osteochondral defect created in the femoral condyle using a novel double-network hydrogel [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2011, 12: 49.

- [2] Hu X, Li D, Zhou F, et al. Biological hydrogel synthesized from hyaluronic acid, gelatin and chondroitin sulfate by click chemistry [J]. Acta Biomater, 2011, 7(4): 1618-1626.
- [3] Khademhosseini A, Langer R. Microengineered hydrogels for tissue engineering [J]. Biomaterials, 2007, 28(34): 5087-5092.
- [4] 杨银, 邵丽, 邓阳全, 等. 智能水凝胶的制备及其在生物医学中的应用 [J]. 化工新型材料, 2010, 38(1): 11-13.
- Yang Y, Shao L, Deng YQ, et al. Intelligent hydrogel and its application in biomedical applications [J]. Hua Gong Xin Xing Cai Liao, 2010, 38(1): 11-13. Chinese.
- [5] Zheng L, Sun J, Chen X, et al. In vivo cartilage engineering with collagen hydrogel and allogeneous chondrocytes after diffusion chamber implantation in immunocompetent host [J]. Tissue Eng Part A, 2009, 15(8): 2145-2153.
- [6] Yuan T, Zhang L, Feng L, et al. Chondrogenic differentiation and immunological properties of mesenchymal stem cells in collagen type I hydrogel [J]. Biotechnol Prog, 2010, 26(6): 1749-1758.
- [7] Liu SQ, Tian Q, Hedrick JL, et al. Biomimetic hydrogels for chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells to neo-cartilage [J]. Biomaterials, 2010, 31(28): 7298-7307.
- [8] Wakitani S, Goto T, Young RG, et al. Repair of large fullthickness articular cartilage defects with allograft articular chondrocytes embedded in a collagen gel [J]. Tissue Eng, 1998, 4(4): 429-444.
- [9] Kuroda R, Ishida K, Matsumoto T, et al. Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2007, 15(2): 226-231.
- [10] Gavenis K, Schmidt-Rohlfing B, Andereya S, et al. A cell-free collagen type I device for the treatment of focal cartilage defects [J]. Artif Organs, 2010, 34(1): 79-83.
- [11] Bosnakovski D, Mizuno M, Kim G, et al. Chondrogenic differentiation of bovine bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) in different hydrogels; influence of collagen type II extracellular matrix on MSC chondrogenesis [J]. Biotechnol Bioeng, 2006, 93(6): 1152-1163.
- [12] Funayama A, Niki Y, Matsumoto H, et al. Repair of full-thickness articular cartilage defects using injectable type II collagen gel embedded with cultured chondrocytes in a rabbit model [J]. J Orthop Sci, 2008, 13(3): 225-232.
- [13] Deyl Z, Miksík I, Eckhardt A. Preparative procedures and purity assessment of collagen proteins [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2003, 790(1-2): 245-275.
- [14] Weyand CM, Fulbright JW, Goronzy JJ. Immunosenescence, autoimmunity, and rheumatoid arthritis [J]. Exp Gerontol, 2003, 38(8): 833-841.
- [15] Sweeney SE, Firestein GS. Rheumatoid arthritis: regulation of synovial inflammation [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(3): 372-378.
- [16] 周强, 吕厚山, 粟占国. 胶原诱导的关节炎动物模型研究现状及进展 [J]. 中华风湿病学杂志, 2003, 7(4): 227-231.
- Zhou Q, Lü HS, Su ZG. Present situation and progress of animal models with collagen induced arthritis [J]. Zhonghua Feng Shi Bing Xue Za Zhi, 2003, 7(4): 227-231. Chinese.

[17] 孔薇,李俊,王婷玉,等. II 型胶原诱导关节炎大鼠模型的制备及评价[J]. 安徽医科大学学报,2008,43(2):173-177.  
Kong W, Li J, Wang TY, et al. Establishment and evaluation of collagen type II-induced arthritis model in rats[J]. An Hui Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2008, 43(2): 173-177. Chinese.

[18] Courties G, Baron M, Presumey J, et al. Cytosolic phospholipase A2 $\alpha$  gene silencing in the myeloid lineage alters development of Th1 responses and reduces disease severity in collagen-induced arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(3): 681-690.

[19] 汪向飞, 张晓丹, 周汉新, 等. 生物医用可吸收止血材料的研究与临床应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(21): 3973-3976.  
Wang XF, Zhang XD, Zhou HX, et al. Research and clinical application of biomedical absorbable hemostatic materials[J]. Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu Yu Lin Chuang Kang Fu, 2010, 14(21): 3973-3976. Chinese.

[20] 曹谊林. 组织工程学[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 173-174.  
Cao YL. Tissue Engineering[M]. Beijing: Science Press, 2007: 173-174. Chinese.

[21] 池光范, 侯宜, 侯立中, 等. 胶原-纤维蛋白混合凝胶对关节软骨细胞合成 II 型胶原的影响[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2004, 30(4): 524-526.  
Chi GF, Hou Y, Hou LZ, et al. Effects of collagen and fibrin mixed gel on collagen II synthesized in articular chondrocytes[J]. Ji Lin Da Xue Xue Bao: medical edit, 2004, 30(4): 524-526. Chinese.

[22] 王立春, 张旗涛, 张宏颖, 等. 纤维蛋白凝胶基质材料用于组织工程修复兔关节软骨缺损与 I 型胶原凝胶和混合凝胶性能特征的比较[J]. 中国临床康复, 2005, 9(26): 116-118.  
Wang LC, Zhang QT, Zhang HY, et al. Different fibrin gel matrix for tissue engineering to repair cartilage defect in rabbits: a comparison with collagen I gel and mixed gel in performance characteristics [J]. Zhongguo Lin Chuang Kang Fu, 2005, 9(26): 116-118. Chinese.

[23] 林蓉, 张富军, 于布为. 生物蛋白胶与过敏性休克[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(3): 203-206.  
Lin R, Zhang FJ, Yu BW. Biogel and Anaphylactic shock [J]. Zhongguo Xin Yao Za Zhi, 2010, 19(3): 203-206. Chinese.

[24] Herlofsen SR, Kuechler AM, Melvik JE, et al. Chondrogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in self-gelling alginate discs reveals novel chondrogenic signature gene clusters[J]. Tissue Eng Part A, 2011, 17(7-8): 1003-1013.

[25] Zheng L, Fan HS, Sun J, et al. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells induced by collagen-based hydrogel: an in vivo study[J]. J Biomed Mater Res A, 2010, 93(2): 783-792.  
(收稿日期: 2011-03-23 本文编辑: 连智华)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

### 本刊关于参考文献著录的要求

本刊参考文献按 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》采用顺序编码著录, 依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出, 并将序号置于方括号中, 排列于文后。参考文献中的作者, 1~3 名全部列出, 3 名以上只列前 3 名, 后加“等”。题名后标注文献类型标志对电子文献是必选著录项目, 文献类型和电子文献载体标志代码参照 GB 3469《文献类型与文献载体代码》。外文期刊名称用缩写, 以 Index Medicus 中的格式为准; 中文期刊用全名。每条参考文献均须著录起止页。每年连续编码的期刊可以不著录期号。①期刊: [序号]作者. 题名[J]. 刊名, 年, 卷(期): 起止页码。②专著: [序号]著者. 书名[M]. 出版地: 出版者, 出版年: 起止页码。③论文集中析出文献: [序号]作者. 题名[C]. // 编者. 文集名. 出版地: 出版者, 出版年: 起止页码。④学位论文: [序号]作者. 题名[D]. 授予学位地: 授予学位单位, 出版年。⑤电子文献: [序号]作者. 题名[EB/OL]. (发表或更新日期). [引用日期]. 网址。

《中国骨伤》杂志社